

L'étude microscopique ne laissait subsister aucun doute sur la présence simultanée de ces deux espèces d'éléments : les tissus de Pin se reconnaissaient à leurs vaisseaux aréolés et à leurs canaux résineux ; ceux du *Posidonia*, à leurs longues et étroites cellules faiblement lignifiées.

Les filaments de *Posidonia* jouaient certainement, dans ces pelotes, le rôle de lien unissant les débris des cônes, qui probablement n'auraient pu s'agglomérer en leur absence.

L'association des filaments de *Posidonia* avec des corps étrangers est assez fréquente dans les ægagropiles ; mais ce sont en général des fragments de spongiaires, d'Algues, etc., que l'on trouve mêlés aux débris de cette plante, tandis que, dans le cas qu'il m'a été donné d'étudier, il s'agissait de productions de végétaux terrestres, qui, malgré leur dureté et leur consistance, avaient pu se réduire sous les flots à l'état de parcelle et sous cette forme se combiner aux filaments du *Posidonia*.

Il est d'ailleurs probable que la plupart des corps submergés peuvent, dans certaines circonstances, donner naissance à des pelotes ; ce fait est bien connu pour les Algues et en particulier pour les Cladophorées qui, détachées de leur support, donnent souvent naissance à des boules parfois volumineuses (1). Ces Algues peuvent, à la façon des filaments de *Posidonia*, s'associer avec des débris de corps étrangers ; c'est ainsi que Masters (2) a trouvé, dans certains petits lacs de l'Angleterre, des pelotes formées par des Algues entrelacées autour de feuilles de Mélèze.

Enfin dans la Manche, à Ambleteuse, Bory de Saint-Vincent (3) a trouvé des ægagropiles qui provenaient de la destruction des tiges du *Zostera marina*.

M. Mesnard fait à la Société la communication suivante :

SUR LES TRANSFORMATIONS QUE SUBISSENT  
LES SUBSTANCES DE RÉSERVE PENDANT LA GERMINATION DES GRAINES (4) ;  
□ par M. Eugène MESNARD.

Plusieurs auteurs ont essayé de déterminer, par les procédés de technique microscopique, la nature des principales transformations que

(1) Ces Algues enroulées sont appelées des *Algues ægagropiles*.

(2) Masters, *Comptes rendus du Congrès d'Amsterdam* (loc. cit.).

(3) Bory de Saint-Vincent, *Dictionnaire classique d'histoire naturelle* (article *Ægagropile*), VI, 1824.

(4) Ce travail a été fait au laboratoire de Botanique de la Sorbonne, sous la direction de M. Gaston Bonnier.



subissent les substances de réserve contenues dans les graines au moment de la germination. Ils espéraient pouvoir, de cette façon, discuter avec plus de précision les résultats fournis par les procédés ordinaires de l'analyse chimique. Poursuivant le même but, j'ai repris l'examen des substances de réserve en portant plus spécialement mon attention sur les huiles grasses et sur les matières albuminoïdes dont le mode de localisation n'avait pas été suffisamment déterminé jusqu'ici.

*Méthode de technique.* — Les huiles grasses se présentent quelquefois dans les cellules sous forme de globules parfaitement sphériques et très faciles à examiner; mais le plus souvent ces huiles sont dissoutes dans le protoplasma et il est impossible d'en reconnaître la présence à première vue.

L'*acide osmique*, qui se réduit, comme on le sait, au contact des matières grasses, a été souvent employé comme réactif des huiles; mais on ne peut tirer aucun avantage sérieux de l'emploi de ce réactif, car l'acide osmique peut se réduire en présence d'un certain nombre d'autres substances : le tanin, les huiles essentielles, le protoplasma lui-même, etc.

La *solution d'orcanette arctique* employée par M. Guignard colore les gouttelettes d'huile en rouge vif. Ce réactif serait très avantageux s'il était possible de s'en servir lorsque les cellules sont remplies de substances de réserve (amidon, aleurone, etc.).

Le procédé suivant me permet d'obtenir la localisation des huiles avec beaucoup de sécurité :

Sur une lamelle de verre on fixe, avec du baume de Canada, deux anneaux de verre concentriques, mais de dimensions inégales, celui qui se trouve à l'intérieur étant de diamètre plus petit et de hauteur moindre. On détermine de cette façon, entre les deux anneaux, un espace annulaire dans lequel on met le réactif. Les coupes sont placées dans une goutte de *glycérine fortement sucrée* déposée sur une lamelle couvre-objet que l'on place sur l'anneau interne servant de support; une lamelle couvre-objet un peu plus grande recouvre l'anneau extérieur et ferme la petite chambre.

Le réactif employé dans tous les cas est l'*acide chlorhydrique pur*, capable, comme on le sait, d'émettre à la température ordinaire d'abondantes vapeurs d'hydrates acides.

La glycérine sucrée, qui est très avide d'eau, s'en empare facilement. De cette façon j'obtiens, par une action lente et facile à limiter, l'hydratation complète des coupes en présence d'un acide. La réaction se fait lentement et peut durer quelquefois de 25 à 30 heures; au bout de ce



temps, le contenu des cellules s'est peu à peu éclairci et l'huile se rassemble en un ou plusieurs globules très faciles à observer. En exposant la préparation pendant une ou deux secondes à des vapeurs d'iode sublimé obtenu très simplement en chauffant une paillette d'iode dans un verre de montre, les globules d'huile prennent une coloration jaune d'or très transparente qui se distingue bien sur le fond jaunâtre trouble du sac protoplasmique.

On peut, si l'on veut, mesurer avec un micromètre le diamètre moyen de ces globules. En comptant le nombre des globules qui se trouvent dans une surface déterminée du champ optique, on peut estimer par un calcul simple la quantité d'huile qui se trouve dans le plan optique de la coupe; il est donc facile d'évaluer la quantité d'huile qui se trouve dans les différents points d'une même préparation. L'emploi de l'acide chlorhydrique présente un autre avantage. Ce réactif colore les matières albuminoïdes en violet, de telle sorte qu'en examinant les coupes dans les premières heures de l'expérience, on obtient la localisation de ces substances.

Les albuminoïdes en voie de digestion (propeptones) prennent une coloration plus rose. Les résultats ont été contrôlés dans tous les cas par les réactifs connus; la présence de l'amidon a été reconnue par le procédé de Sachs, celle du glucose par la liqueur cupro-potassique.

Mes recherches ont porté sur deux séries de graines :

1° *Graines oléagineuses proprement dites.* — La graine de Ricin présente, comme on le sait, deux cotylédons aplatis l'un contre l'autre et recouverts d'un albumen dont les cellules sont remplies d'huile et de grains d'aleurone. Les cotylédons renferment également de l'huile. Au moment de la germination, la digestion des réserves commence dans la région de l'albumen qui avoisine la radicule, et elle s'étend de plus en plus dans la zone qui touche les cotylédons. L'amidon, invisible normalement dans la graine à l'état de repos, apparaît sous forme d'amidon transitoire ou de germination, en petite quantité dans l'albumen, en grande abondance dans l'axe hypocotylé. On en retrouve même un peu dans les cotylédons.

Quand la radicule s'allonge, l'huile est entraînée dans l'axe hypocotylé, mais on la voit bientôt se résoudre en globules de plus en plus petits et disparaître complètement. Les matières albuminoïdes ne cheminent pas non plus très loin, et il n'est bientôt plus possible d'en trouver que dans les vaisseaux de l'axe hypocotylé et vers la pointe de la racine où il existe également un peu de sucre.

L'épiderme des cotylédons reste inactif, c'est-à-dire qu'il ne développe pas ses cellules. Pourtant, dans la partie qui avoisine la base de l'albu-



men, les cellules de l'épiderme s'allongent un peu comme des suçoirs. Cette disposition ne paraît pas devoir se rapporter à l'absorption de l'huile, car elle est trop locale; peut-être est-elle destinée à absorber le sucre qui se forme, ainsi que l'a montré Schmidt, surtout à la base de l'albumen.

Dans une graine de Courge à peine germée, l'huile et les albuminoïdes sont très abondantes, sauf dans la partie des cotylédons qui s'est déjà différenciée pour former du tissu en palissade; on y trouve un peu de glucose. Quand l'embryon se développe, les albuminoïdes se répandent sur toute la radicule en occupant de préférence la région des vaisseaux et les parties voisines de l'extrémité. L'amidon transitoire se localise de préférence dans les cellules où les albuminoïdes n'existent pas. Quant à l'huile grasse elle-même, elle se résout peu à peu en petits globules qui disparaissent dans l'axe hypocotylé, mais sans présenter de relation apparente avec l'amidon de germination.

La graine mûre d'Arachide nous montre à la fois de l'huile, des matières albuminoïdes et de l'amidon. Au moment de la germination, des vaisseaux nombreux se développent dans la moitié externe des cotylédons et déterminent une zone de consommation dans laquelle disparaissent rapidement, d'abord les albuminoïdes, puis l'huile et enfin l'amidon; les réserves qui occupent toute la face interne des cotylédons disparaissent très lentement. Quand toutes ces réserves ont disparu, on trouve, dans les cellules, des amas colorables en jaune par l'iode (amylites).

L'albumen, les cotylédons et l'embryon du Pin sylvestre renferment, tout au début de la germination, beaucoup d'huile et d'abondantes matières albuminoïdes. La coloration rouge acajou de l'iode indique la présence de l'amylo-dextrine; l'amidon apparaît un peu plus tard dans le mésophylle des cotylédons, mais il ne s'en forme pas dans l'albumen. Dans cette dernière partie, au contraire, on voit un peu de sucre. Les albuminoïdes de cet albumen disparaissent rapidement, mais l'huile persiste pendant longtemps.

Les expériences répétées sur un grand nombre de graines oléagineuses, Coton, Lin, Chanvre, Colza, Pavot, Bardane, Datura, ont donné les mêmes résultats.

2° *Graminées*. — Les graines de Blé, de Seigle, d'Orge, de Maïs, etc., présentent des exemples intéressants, parce que ces graines ont un embryon nettement oléagineux et un albumen farineux. Sauf quelques modifications dans la nature ou dans la quantité des substances mises en présence, les phénomènes généraux restent les mêmes. Rappelons que, dans un grain de Blé non germé, l'embryon, riche en huile et en



matières albuminoïdes, touche au sac farineux par une sorte de disque, l'*écusson*, recouvert lui-même d'un épiderme de nature spéciale. L'embryon se développe du côté opposé et communique avec l'écusson par une sorte de pédoncule. Tout le pourtour du sac farineux est recouvert d'une assise de cellules contenant également des matières albuminoïdes et de l'huile et que l'on nomme l'*assise à gluten*. On peut facilement observer que cette assise à gluten n'est pas une continuation des tissus de l'embryon, ce qui rend bien inutile l'expérience de Haberlandt (1), destinée à réfuter une opinion de M. Prangl, d'après laquelle les diastases produites dans l'embryon seraient en quelque sorte canalisées dans l'assise à gluten et déversées ensuite sur la périphérie de l'albumen amylicé. Durant la période de repos, l'huile et les albuminoïdes apparaissent seules dans l'écusson et dans l'embryon; il n'y a pas d'amidon. Au bout d'une dizaine d'heures de germination et alors que la digestion de l'albumen farineux n'est pas encore commencée, on voit apparaître de l'amidon transitoire dans l'écusson. Il se porte en masse vers l'embryon avec les albuminoïdes et l'huile qui se réduit en globules de plus en plus petits. Mais les albuminoïdes se maintiennent dans les parties où la croissance est très active; l'amidon se localise dans les autres parties. La localisation de l'huile est complètement indépendante de celle des autres substances. Il existe dans l'écusson toute une zone de digestion de l'huile correspondant à l'emplacement d'un grand faisceau vasculaire qui se ramifie à l'intérieur des tissus.

En même temps, l'épiderme spécial de l'écusson, très riche en matières albuminoïdes, se développe beaucoup et se transforme en une *frange* de cellules cylindriques dont la longueur peut atteindre trois à quatre fois celle du début (Maïs). Par ces cellules on voit s'écouler dans l'albumen farineux un flux de matières albuminoïdes et diastasiques qui imbibe l'amidon et provoque sa digestion : l'huile semble contribuer, pour une faible part, il est vrai, à alimenter ce liquide digestif. L'assise à gluten ne reste pas non plus inactive; elle fournit également un liquide renfermant des albuminoïdes solubles et des diastases, qui sont utilisées sur place comme l'a pensé M. Krabbe (2), mais l'huile contenue dans l'écusson disparaît très lentement. L'amidon de réserve se trouve donc ainsi attaqué de toutes parts, mais c'est surtout l'épiderme de l'écusson qui fournit la presque totalité des diastases.

(1) Haberlandt, *Die Kleberschicht des Gras-Endosperms als Diastase Ausscheidendes Drüsengewebe* (Berichte der deut. bot. Gesellschaft, février 1890).

(2) Krabbe, *Untersuchungen über das Diastaseferment unter specieller Berücksichtigung seiner Wirkung auf Stärkekörner innerhalb der Pflanze* (Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, XXI, 4).



*Considérations générales.* — Comme nous venons de le voir, la production de l'amidon transitoire est un phénomène général dans la germination des graines; et comme cette production se fait toujours dans les parties de l'embryon où l'huile semble se dissocier, Sachs (1) en a conclu que l'amidon provient de l'huile. Cette opinion a été admise par la plupart des auteurs. Mais l'étude du mode de localisation des différentes substances de réserve m'a montré que les liens qui semblent rattacher les huiles et l'amidon transitoire ne sont pas aussi serrés qu'on pourrait le supposer. Il m'a paru au contraire plus certain qu'il existe une relation très intime entre l'huile et les matières albuminoïdes d'une part, entre les albuminoïdes et l'amidon ou les sucres d'autre part. Le pivot commun à ces différentes substances serait donc formé par les matières albuminoïdes. Généralement, dans les graines mûres, on ne trouve pas d'amidon, c'est-à-dire que le réactif, si simple pourtant, de l'iode n'en accuse pas la présence. Cela veut-il dire que la matière amylacée n'existe pas dans la graine mûre? Nullement. Si l'on met à germer un grain de Blé, on peut constater qu'au bout de quelques heures, il gonfle et commence à accuser la présence de l'amidon transitoire. Or la matière amylacée n'a pas pu provenir du sac farineux, situé non loin de là, car on peut obtenir la même production d'amidon en faisant germer un embryon séparé de l'albumen farineux. Cette production d'amidon s'est donc faite dans l'écusson, et il faut admettre ou bien qu'il se produit un dédoublement des matières albuminoïdes comme l'a supposé M. Belzung (2), ou bien qu'il y a superposition des différentes substances dans les cellules. Sans en avoir de preuves certaines, j'accepte volontiers cette dernière hypothèse; car il est difficile d'admettre qu'à une époque aussi précoce de la germination et alors que les cellules sont pour ainsi dire à peine imbibées d'eau, il puisse se produire des transformations aussi complexes que celle des huiles ou des albuminoïdes en amidon.

Examinons maintenant le mode de dissociation de l'huile. Au moment de la germination, l'huile, ainsi que je l'ai montré, se perd peu à peu dans l'axe de la plantule, mais sans occuper des tissus spéciaux. On s'accorde à dire qu'elle subit un dédoublement par saponification sous l'influence d'une diastase que l'on a appelée une *saponase*. Il faut cependant remarquer que nulle part on ne voit de zone de digestion comparable à celle qui attaque et dissout le sac farineux du grain de Blé. L'huile disparaît bien quelquefois de certaines cellules situées au milieu

(1) Sachs, *Ueber das Auftreten der Stärke bei der Keimung ölhaltiger Samen* (Bot. Zeit., 20 mai 1859).

(2) Belzung, *Amidon des grains de chlorophylle* (Ann. sc. nat., 7<sup>e</sup> série, 1887).



des tissus, mais c'est parce que ces mêmes cellules sont en voie d'évolution, soit pour donner du tissu en palissade dans les cotylédons, soit pour former des cellules du bois ou du liber. On pourrait faire une objection du même genre aux conclusions de J.-R. Green (1), qui attribue la décomposition des albuminoïdes à une diastase voisine de la trypsine animale. Il est bien inutile de faire intervenir une diastase plus ou moins hypothétique, les besoins de la consommation des tissus et l'activité propre du protoplasma suffisant à expliquer la disparition de l'huile. Au surplus les analyses de Fleury (2), de Pelouze, de Boussaingault et de M. Müntz (3) ont bien démontré que, pendant la germination des graines oléagineuses, il y avait, en même temps qu'une diminution de l'huile, une augmentation dans la quantité d'acides gras; mais M. Müntz et plus récemment encore Schmidt (4) n'ont pas pu retrouver la glycérine, et ils ont été obligés d'admettre que la consommation de cette substance était tellement rapide qu'il était impossible d'en saisir la présence.

Les phénomènes sont probablement plus simples. L'action de l'oxygène de l'air, absorbé, comme on le sait, en assez grande quantité pendant la germination des graines, se portant soit sur les albuminoïdes, soit sur les huiles ou même sur les deux sortes de substances à la fois, pourrait très bien suffire à la production des acides gras que l'on constate sans qu'il soit nécessaire de faire intervenir un dédoublement par une diastase. La quantité de glycérine produite de cette façon serait certainement trop faible pour être mise en évidence par les procédés ordinaires de l'analyse chimique.

CONCLUSIONS. — De ces observations on peut conclure que :

1° *Sauf chez les Graminées, les huiles grasses ne sont pas localisées dans les assises spéciales. Ces huiles se rencontrent dans les cellules appartenant aux divers tissus de l'albumen ou des cotylédons et elles disparaissent peu à peu suivant les besoins de la consommation des tissus nouvellement formés. En cela ces substances se comportent comme les albuminoïdes qu'elles accompagnent toujours.*

2° *L'huile se montre, dans tous les cas, indépendante de l'amidon et du glucose, mais elle paraît se superposer aux albuminoïdes dans les*

(1) J.-R. Green, *On the Occurrence of vegetable Trypsin in the fruit of Cucumis utilisissimus* (Roxb. *Annals of Botany*, VI, 1892).

(2) Fleury, *Recherches chimiques sur la germination* (Ann. sc. nat., t. IV).

(3) Müntz, *La germination des graines oléagineuses* (Agronomie Boussaingault, t. IV, 1874).

(4) Schmidt, *Ueber Aufnahme und Verarbeitung von Fetten Oellen durch Pflanzen* (*Flora*, juin 1891, p. 100).



*réserve des graines mûres. Il s'ensuit que ces dernières substances semblent être le pivot commun autour duquel gravitent les principales substances de réserve.*

*3° Le dédoublement des huiles par saponification sous l'influence d'une diastase spéciale ne paraît pas devoir exister. L'oxydation des huiles ou celle des albuminoïdes suffirait à expliquer la présence des acides gras que l'on a constatée par les analyses chimiques.*

*4° Comme l'amidon semble se séparer des albuminoïdes dans les premiers temps de la germination et qu'il est peut-être difficile d'admettre, dans ces conditions, la possibilité d'un dédoublement de ces matières, il me paraît plus simple de supposer que, dans les graines, plusieurs matières de réserve peuvent se rencontrer dans les mêmes cellules, et que chacune de ces substances est susceptible de reprendre son indépendance au moment de la germination.*

M. Jacob de Cordemoy fait à la Société la communication suivante :

**SUR LE SECOND BOIS PRIMAIRE DE LA RACINE DE CERTAINES LILIACÉES ARBORESCENTES (1), par M. H. Jacob de CORDEMOY.**

Dans une communication faite à la Société botanique en 1887 (séance du 11 mars), M. Van Tieghem appela l'attention sur la formation, dans la racine, d'un second bois primaire superposé au liber, à développement centrifuge, et qu'il nomma le *métaxylème*. M. Van Tieghem étudia, à ce point de vue, la racine d'un certain nombre de plantes prises parmi les Dicotylédones, les Monocotylédones, les Gymnospermes et les Cryptogames vasculaires. Il démontra que ces faisceaux de métaxylème prenaient naissance aux dépens de certaines cellules conjonctives situées au bord interne des faisceaux libériens, disposées en files longitudinales, et qui se différenciaient, par élargissement, épaississement et lignification de leur membrane, en autant de vaisseaux; il fit observer, de plus, que ces faisceaux vasculaires, alternes avec les faisceaux vasculaires rayonnants à développement centripète, étaient primaires comme ces derniers, mais présentaient un développement centrifuge.

Parmi les Monocotylédones, auxquelles se bornent les remarques que je vais exposer, M. Van Tieghem examina surtout l'*Iris* et l'*Eriopho-*

(1) Ce travail a été fait au laboratoire de recherches de Botanique de la Sorbonne, dirigé par M. Gaston Bonnier.